

11
~~10~~

FACULTÉ MIXTE
DE
MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

Contribution à l'étude d'une Synanthérée anthelmintique :
La Tanaïsie (*Tanacetum vulgare* L.)

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 15 Décembre 1952

PAR

DAHON Jacqueline

née le 18 Février 1927, à Toulon (Var)

Pharmacien, Assistante à la Faculté

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (UNIVERSITE)

Examineurs
de la Thèse

{ MM. BALANSARD, *Président*
DELPHAUT
PELLISSIER
GREBUS

1952

Imprimerie MINERVA
20, La Canebière, 20
— MARSEILLE —



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ MIXTE
DE
MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

Contribution à l'étude d'une Synanthérée anthelmintique :
La Tanaïsie (*Tanacetum vulgare* L.)

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 15 Décembre 1952

PAR

DAHON Jacqueline

née le 18 Février 1927, à Toulon (Var)

Pharmacien, Assistante à la Faculté

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (UNIVERSITE)

Examineurs de la Thèse	{	MM. BALANSARD, <i>Président</i> DELPHAUT PELLISSIER GREBUS
---------------------------	---	---



PERSONNEL ENSEIGNANT

DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : G. MORIN

Assesseur : N...

Doyen Honoraire : L. IMBERT

Professeurs

Honoraire

} MM. GAUJOUX, AUBARET, AUDIBERT, JOYEUX,
OLMER, ROCHE, GABRIEL, HECKENROTH,
BELTRAMI, BREMOND.

Chargé de Cours Honoraire : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^{lle} PERRIN

Professeurs

Anatomie	MM. GRISOLI
Anatomie Pathologique et Carcinologie Clinique....	N...
Bactériologie et Pathologie Générale	N...
Chimie Analytique et Hydrologie	N...
Chimie Médicale	DERRIEN
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale, Infantile et Orthopédique ..	SALMON
Clinique Chirurgicale, Thérapeutique et Chirurgie Expérimentale	DE VERNEJOUL
Clinique Dermato-Syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies Nerveuses	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER
Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nutrition	MONGES
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologie	N...
Clinique Ophtalmologie	JAYLE
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histoire Naturelle	BALANSARD
Histologie	ROMIEU
Hygiène et Médecine Préventive	VIOLLE
Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	SAUTET
Pathologie Chirurgicale	CARCASSONNE
Pharmacodynamie et Matière Médicale	F. MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DUBOULOZ
Thérapeutique	PIERI
Professeur sans chaire	ARNOUX

Agrégés libres

MM. BERTHIER, AUDIER, BRAHIC, CHOSSON, DOR, FIGARELLA, IMBERT, RECORDIER.

Agrégés en exercice

MM. BERNARD, GRANJON, HENRY, JOUVE, LAMY, LAVAL, LENA, MONGES Henri, OLLIVIER, OURGAUD, PAOLI, RAYBAUD, VAGUE.

Maîtres de Conférence Agrégés

MM. DONNET, DUMAZERT, GASTAUT, MOURGUE, PELLISSIER, PICARD, RANQUE, ROUX.

Chargés des fonctions d'Agrégés

Clinique Oto-Rhino-Laryngologique M. CARREGA
Pharmacodynamie et Matière Médicale M. J. MERCIER

A la mémoire de mon père,

A ma mère,

A mes parents,

A mes amis,

A mes maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie.

Hommages respectueux.

A mon Président de Thèse :

Monsieur le Professeur BALANSARD

Qu'il veuille trouver ici l'expression de mon affectueux
attachement et de ma profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur DELPHAUT

Vous m'avez toujours témoigné beaucoup de sympathie et d'intérêt à l'Hôpital et dans votre Laboratoire. Je vous prie de croire à ma très sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé PELLISSIER

auprès de qui j'ai trouvé l'accueil le plus aimable, et qui m'a
prodigué son aide et ses encouragements.

A Monsieur le Professeur Agrégé GREBUS

Faible témoignage de mes sentiments respectueux et recon-
naissants.

INTRODUCTION

GÉNÉRALITÉS

La Tanaisie est une plante herbacée, vivace par ses racines, de la famille des Composées, de la tribu des Radiées. Elle végète en Europe et singulièrement en France. On la trouve, dit-on, également en Sibérie.

Sa tige, de 8 à 12 décimètres, est droite. Ses feuilles sont ovales, largement découpées à lobes larges, aigus, souvent dentés sur le bord extérieur.

L'involucre est à folioles coriaces, obtuses ; les capitules sont jaunes, disposés en corymbe. Les fleurs sont tubuleuses, les fleurs femelles disposées sur le pourtour, les fleurs du disque étant hermaphrodites.

Les fruits sont des akènes pourvus de côtes longitudinales et terminés par un disque plat surmonté d'un rebord membraneux. La plante a une odeur aromatique et pénétrante.

Elle fournit au droguier ses sommités fleuries. Elle figura au Codex jusqu'en 1908, date à laquelle elle fut supprimée. Les antiques vertus de la drogue ont été résumées par H. LECLERC dans son précis de *Phytothérapie* (6).

Les propriétés anthelmintiques ont été signalées pendant la Renaissance par MATTHIOLE qui l'emploie contre les vermines rondes du corps.

FUCHS, en Allemagne, la recommande sous le nom d'herbe aux lombrics, car ses fleurs réussissent merveilleusement chez les enfants pour expulser les vers de l'intestin.

Sa semence est un vermifuge si parfait qu'elle a été vendue très longtemps à la place du semen contra, nous disent BUCHAN et WILLEMET.

GEOFFROY fit évacuer 32 lombrics par son application sur l'abdomen.

Son efficacité l'a fait ainsi célébrer par DUFOUR de la CRESPELIERE :

« Qui fait mourir les vers au corps

« De bonnes gens à demy morts. »

Elle possède cependant d'autres propriétés moins connues, mais qui l'ont fait utiliser à travers les âges. Au XII^e siècle, elle fait son apparition dans la pharmacopée patronnée par sainte Hildegarde qui parle longuement de son utilité dans les catarrhes, la toux, les pesanteurs d'estomac, pour restreindre l'abondance des humeurs, favoriser la menstruation et calmer les douleurs qu'elle provoque.

Ensuite, elle fut utilisée en tant que diurétique contre la pierre et la gravelle, dans les fièvres intermittentes, contre l'impétigo, les dartres et les teignes, dans la jaunisse. C'est, d'après KROEBER (5), un remède populaire pour différents troubles gastriques, coliques, rhumatisme. Une préparation alcoolique était préparée pour ce dernier traitement.

Tout récemment, Hans BRAUN (1) a trouvé que la teinture préparée à partir de la plante à la dose de XXX gouttes dans l'eau provoque une augmentation marquée de l'acidité gastrique.

L'activité de la Tanaisie et son pouvoir anthelmintique ont été l'objet de nombreux travaux.

PERROT (8) nous indique que l'injection d'une solution huileuse à 10 pour cent dans l'huile d'amande d'extract ethero-alcoolique est mortelle. Une dose de 5, 6, 7,5 cm³ amène la mort avec paralysie de l'arrière-train. Elle est toxique pour les lombrics, ascaris et poissons.

Bien que non usitée officiellement, il semble résulter que son action est réelle, en particulier sur les ascaris, mais non sur les ténias et les oxyures.

Nous pouvons recueillir dans le formulaire de Phytothérapie un traitement préconisé par DECAUX dans l'oxyurose qui est une infusion concentrée de la plante entière en lavement ou l'extrait (0 gr. 30) sous forme de suppositoires.

Ceci est à rapprocher des déclarations de LECLERC (6) : « Ce sont les « préparations galéniques représentant le complexe chimique naturel de « la plante qui lui valent la place importante qu'elle occupe parmi les ascaricides. »

Dans le traité de Matière Médicale de PLANCHON, BRETIN et MAN-CEAU (9), on trouve trace des essais effectués à Madras sur des porteurs d'ascaris, d'ankylostomes et necators par CAIUS et MHASKAR qui nient toute activité à l'essence.

En fait, le résultat de ces expériences a été rapporté et en partie vérifié par CROUY (3) dans sa thèse.

Postérieurement à cette étude, on recueille encore une opinion contraire formulée par JARETSKY et KUHNE (4), opinion qui s'appuie, il est vrai, sur des essais fragiles.

Des travaux effectués jusqu'à ce jour et de l'emploi prolongé de la drogue, on peut tirer la conclusion suivante :

La Tanaisie est une drogue anthelmintique, mais on ignore tout du ou des principes auxquels elle doit cette vertu.

C'est afin d'essayer de combler cette lacune que nous en avons repris l'étude qui a pour point de départ le remarquable travail de L. CROUY (3).

Cette étude comprendra :

- 1° Un bref rappel de l'histoire chimique de la drogue jusqu'aux études de JARETSKY et KUHNE ;
 - 2° Une revue des essais pharmacodynamiques effectués jusqu'à ce jour ;
 - 3° Un exposé de nos travaux sur ce sujet.
-

HISTOIRE DE LA CHIMIE DE LA DROGUE

Nous ne donnerons ici qu'un bref résumé des travaux exposés par CROUY (3) dans sa thèse.

En 1827, PESCHIER isole l'acide tanacétique du résidu de la distillation des fleurs.

Vingt ans plus tard, LEROY, employant la technique d'extraction qu'HOMOLLE prônait pour la Digitaline, obtient un principe amer.

FROSINI et MERLETTA, en 1871, préparent l'acide tanaïsiq. En 1882, LEPPIG obtient une matière amère qu'il nomme Tanacétine et un corps nouveau qu'il appelle acide Tanacetotannique.

D'autres recherches aboutirent au début du XX^e siècle à la découverte de nouveaux corps et singulièrement d'un principe de nature alcaloïdique que SIEDLER nomme « Tanacétine-Riedel ».

De toutes ces recherches effectuées antérieurement à son étude, CROUY (3) en 1927 conclut :

« Il ne se dégage de ces travaux contradictoires qu'un point précis :
« c'est l'accord des auteurs sur la présence dans les sommités fleuries
« de Tanaïsie d'un principe amer le plus souvent appelé Tanacétine.

« Encore est-il que la question de ce principe amer est elle-même
« assez obscure et qu'il reste à ce sujet bien des points à élucider. »

Comme substances banales, nous pouvons signaler dans l'extrait :

- 13,5 à 14,3 pour cent de résine ;
- 6,6 à 14,3 pour cent de matière grasse ;
- 11,5 pour cent de tanin ou acide tanacetotannique ;
- 35 pour 100 d'insoluble dans l'eau ;
- 13,6 pour cent de cendres ;
- des acides gras tels que l'acide oléique, linolique, linoléique, stéarique ;
- un phytostérol ;
- de l'alcool mélassique ;
- des mucilages ;
- des acides citrique, tartrique, malique, oxalique.

Quant à l'essence connue dès le XVI^e siècle, elle figure pour la première fois dans la taxe de la ville de FRANCFORT-sur-le-MEIN en 1582.

La partie essentielle de cette essence est constituée par la B-thuyone ou tanacetone à laquelle s'ajoutent camphre gauche et bornéol.

Nous reportant aux travaux de CROUY (3) sur la composition chimique de la Tanaïsie, nous le voyons infirmer la présence d'alcaloïdes dont l'existence avait été mentionnée par SIEDLER en 1902.

De plus, CROUY (3) mit en évidence par la méthode de BOURQUELOT la présence d'un hétéroside. Mais il ne put l'isoler.

Pour extraire ce corps, il traite des feuilles de Tanaïsie par l'alcool en présence de carbonate de chaux. Les liqueurs alcooliques filtrées, concentrées à l'état d'extrait mou, sont reprises par l'eau distillée.

Cette solution est déféquée par le sous-acétate de plomb dont on se débarrasse par l'hydrogène sulfuré en excès.

Il filtre, distille dans le vide à basse température, jusqu'à consistance sirupeuse. La solution placée dans un exsiccateur se met à cristalliser ; mais il ne peut obtenir d'hétéroside.

JARETSKY et KUHNE (4), ignorants des nombreux travaux précédents, entre autres ceux de CROUY (3), attribuent à l'essence les vertus vermifuges de la drogue, non pas tellement à la suite des résultats expérimentaux, mais parce que l'essence est depuis longtemps utilisée dans la médecine populaire comme anthelmintique.

Abordant l'étude des principes amers de la drogue, ils extraient un corps auquel ils donnent le nom de Tanacétine II, réservant l'appellation de Tanacétine I au produit précédemment isolé.

Cette Tanacétine II est ainsi préparée :

On épuise la drogue par l'eau bouillante, on filtre, défèque par l'acétate de plomb. Le précipité est lavé à l'eau et à l'alcool, puis décomposé en milieu acétique par l'hydrogène sulfuré. La liqueur filtrée est concentrée à consistance d'extrait qui est épuisé par l'alcool.

Celui-ci, distillé et évaporé, abandonne un extrait qu'on reprend à nouveau par l'alcool. On recommence cette opération jusqu'à l'obtention d'une liqueur alcoolique claire. On distille, évapore, reprend par l'eau. On épuise à l'éther dont on chasse les dernières traces au bain-marie.

Une nouvelle précipitation à l'acétate neutre accompagnée des mêmes opérations, à ceci près que l'hydrogène sulfuré est remplacé par une solution d'acide sulfurique, conduit à l'obtention d'un produit qu'on achève de purifier par reprise à l'alcool absolu.

Le corps amorphe obtenu est brun-clair. Il répond à la composition suivante : $C_{51,6}H_{6,9}O_{41,5}$ et se trouve dans la drogue dans la proportion de 0,1 par kilog. Ses principales réactions et caractères sont les suivants : il est soluble dans l'eau, l'alcool, les alcalis et les acides. Il est insoluble dans l'éther, l'acétone et l'ester acétique. Il ne laisse pas de cendres à l'incinération.

En solution dans l'alcool absolu, en présence de naphtol B et d'acide sulfurique, il donne une coloration jaune puis verdâtre.

Si, opérant dans les mêmes conditions, on remplace le naphtol par la résorcine, on obtient une coloration jaune puis rouge.

Avec la substance à l'état solide, SO_4H_2 donne une coloration jaune puis rose-rouge.

NaOH donne une solution brun-rouge.

Par le réactif de FROEDHE et l'acide sélénieux, on obtient une coloration brune, violette, rouge-sang, rouge-brun et à la longue vert-clair.

Cette réaction est considérée par les auteurs comme étant spécifique à ce corps, ainsi que le précipité vert donné par un sel de fer.

En solution aqueuse, on obtient :

- avec l'acide phosphomolybdique : un précipité vert
- avec l'acide phosphotungstique : un précipité jaune-rouge
- avec l'acétate de plomb : un précipité jaune
- avec le nitrate d'argent : un précipité vaseux.
- avec la liqueur de Fehling : il n'y a pas de réduction avant et après hydrolyse chlorhydrique.

Les réactifs des alcaloïdes, entre autres le réactif de BOUCHARDAT et l'acide picrique, qui, avec la Tanacétine I, donnent un précipité ou un trouble intense, ne donnent rien avec la Tanacétine II.

Ce corps n'est pas un tanin, disent-ils, car on n'obtient pas de précipité avec les solutions de gélatine.

De plus, ses auteurs indiquent que :

— l'acide gallique de LEPPIG serait un mélange de Tanacétine II et d'acide malique.

CONCLUSION

En résumé, l'essence exceptée, aucun corps parfaitement défini pouvant expliquer l'action anthelmintique de la drogue ne peut être retenu à la suite des travaux effectués jusqu'à ce jour.

ESSAIS PHARMACODYNAMIQUES

Ces essais furent effectués par CROUY (3) à partir d'un extrait éthéré de Tanaisie. Les sommités fleuries furent traitées suivant la technique indiquée par le Codex de 1908 pour la préparation de l'extrait éthéré de fougère mâle qui n'est autre chose qu'un extrait préparé par percolation à l'éther.

La toxicité de l'extrait fut déterminée sur le cobaye. Une solution à 10 pour 100 de l'extrait dans l'huile d'amande douce fut utilisée par voie parentérale.

Un cobaye pesant 590 grs, à qui l'on injecte 10 cm³ de cette solution huileuse, meurt 5 heures après, présentant des signes de torpeur, dyspnée et une paralysie du train arrière.

Un cobaye témoin, ayant reçu la même quantité d'huile d'amande douce, ne présente aucun trouble. En diminuant la quantité injectée, CROUY (3) démontra que 5 cm³ injectés à un cobaye de 450 grs suffisent pour tuer le cobaye, cm³ qui correspond à 1 gr. et 1 gr. 10 d'extrait par kilog d'animal. On peut en déduire que la toxicité de cette préparation est très faible.

De nombreuses expériences furent faites pour déterminer le pouvoir anthelmintique de cet extrait.

En premier lieu, l'auteur prépare une solution aqueuse de l'extrait, faite d'après le standard proposé par le Professeur STRAUB et adopté par la 2^e Conférence internationale de Bruxelles pour l'extrait éthéré de fougère mâle.

L'extrait trituré avec de la magnésie est réduit en poudre. L'épuisement de la poudre est fait avec 100 cm³ d'eau pour un gramme d'extrait.

Cette solution aqueuse a été employée pour tuer des vers de terre de l'espèce *Lumbricus terrestris* (L), dont le poids varie entre 2 gr. 50 et 3 gr. 50.

Les vers plongés dans cette solution présentent de violentes convulsions et meurent dans un temps variant de 30 à 45 minutes.

Reprenant les expériences de STRAUB, mais avec une autre espèce de ver : *Allolobophora terrestris* SAVIGNY, l'auteur injecte dans le clitellum de ces vers pesant 3 gr. environ 0,2 cm³ d'extrait éthéré de Tanaisie en solution huileuse à 10 pour 100 sans obtenir des résultats.

Il fractionne alors son extrait en 3 parties :

- une FRACTION A : insoluble dans l'éther, l'éther de pétrole, la benzine et les liqueurs alcalines; soluble dans le chloroforme;
- une FRACTION B : soluble dans l'éther, insoluble dans l'éther de pétrole et dans l'eau de baryte;
- une FRACTION C : soluble dans l'éther et dans l'eau de baryte.

La santonine en solution huileuse à 1 pour 100, les fractions B et C injectées ne provoquent rien. La fraction A seule tue le ver en 20 heures.

CROUY (3) en conclut : « Les essais sur les vers de terre ne sauraient « donc renseigner sur la valeur anthelmintique d'une substance, tout au « moins dans les conditions mentionnées, puisqu'un vermifuge réputé actif : « la santonine s'est montrée sans action ».

Devant ces échecs, CROUY (3) s'adresse à la technique proposée par WASICKY à la Conférence de Bruxelles.

Les essais portent sur de petits poissons rouges. La préparation employée est l'extractif aqueux-magnésien préparé à partir de l'extrait éthéré et dilué au 1/3.

Plongés dans une telle préparation, les poissons nagent sur le côté, présentent des mouvements désordonnés, tournent sur eux-mêmes. Cette

crise est suivie d'une période de rémission. Ces deux phases alternent plusieurs fois pour aboutir à la mort, au bout de 1 heure 10 minutes à 1 heure 20 minutes. Avec une solution plus concentrée, au demi, la mort survient au bout de 25 à 35 minutes.

Des témoins placés dans l'eau distillée, dans l'eau saturée de magnésie ou dans la santonine en solution à 0,01 pour 100 ne présentent aucun trouble.

Ces résultats, indique l'auteur, ne renseignent pas davantage sur le pouvoir anthelmintique.

Après ces essais infructueux, CROUY (3) s'adresse à *Ascaris megalcephala* et se place dans des conditions voisines de celles qu'on trouve dans l'organisme. De plus, afin de pouvoir effectuer ses expériences au laboratoire, il recueille les vers aux abattoirs, les transporte dans des bouteilles thermos contenant un milieu particulier exigé par ce parasite : le milieu de Bünge isotonique au liquide ascaridien.

Les ascaris, placés dans des cristallisoirs contenant les solutions à étudier, sont mis à l'étuve à 38°.

Plongés dans la solution aqueuse d'extrait de Tanaisie, ils meurent après 57 heures de bain.

Placés dans la solution saturée de magnésie, ils meurent après 59 heures, et dans la santonine à 0,1 pour 100 en solution aqueuse après 56 heures.

Ces expériences furent poursuivies en pratiquant des injections dans le segment postérieur d'*Ascaris megalcephala*.

Les résultats trouvés ne furent pas plus concluants. Passant aux essais in vitro, l'auteur s'adresse aux chiens et obtient des résultats faussés au départ, car il ignore si les animaux mis en expérience sont parasités.

Il leur administre des pilules préparées avec de la magnésie ou une solution huileuse de l'extrait éthéré préparé par lui.

Un chien soumis à ce traitement n'expulse pas de vers, bien que l'autopsie effectuée 15 jours plus tard indique la présence de tœnia.

Un autre, dépourvu de parasites, vomit.

Devant ces résultats négatifs, l'auteur s'adresse à l'homme.

Les expériences sont réalisées :

- a/ sur un homme porteur de *Tœnia saginata* ;
- b/ sur une femme et un homme abritant des *Ascaris lumbricoïdes* ;
- c/ sur un enfant parasité par *Oxyurus vermicularis*.

La préparation n'a agi que dans le cas où le parasite était un *Ascaris*.

Plus tard, JARESTSKY et KUHNE (4), essayant l'action de la Tanacetone II et de diverses fractions isolées par eux de la drogue sur les vers de terre, les grenouilles et les poissons, admettent qu'elles sont inefficaces.

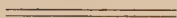
Ils trouvent la confirmation du fait que le principe actif est bien l'essence en ce qu'une décoction longuement portée à l'ébullition s'avère inactive sans préciser les doses utilisées.

Ils admettent que l'action anthelmintique est due à la Tanacetone ou B-Thuyone, dont la teneur est variable suivant l'essence commerciale considérée.

CONCLUSION

En résumé de ces études et des constatations effectuées par CAIUS et MASIIKAR, on peut conclure que l'extrait éthéré de Tanaisie est actif sur les vers de terre in vitro et *Ascaris lumbricoïdes* in vivo, l'essence s'avérant inactive vis-à-vis de ce dernier parasite.

RECHERCHES
PERSONNELLES



ÉTUDE CHIMIQUE

Les essais ont été effectués à partir d'un extrait hydro-alcoolique préparé par percolation avec l'alcool à 45° de la drogue sèche.

Notons, dès ici, que cet extrait ne peut être que très pauvre en essence, étant donné son mode de préparation.

1./ ESSAIS PRÉLIMINAIRES

Ils ont été effectués surtout dans le but de rechercher les principales substances de ballast qu'il est nécessaire d'éliminer au cours de l'extraction.

En solution aqueuse : l'extrait présente une réaction acide et un pouvoir aphrogène marqué.

Fe_2Cl_6 : donne une coloration verte en milieu dilué et un précipité en milieu concentré.

HCl : donne un précipité noir dû à la présence de produits de dégradation tannique vraisemblablement.

Eau de baryte : donne un précipité brun très important.

Acétate neutre de Pb : donne un précipité jaune-brun.

Après filtration, la liqueur colorée en jaune-foncé donne avec le sous-acétate de plomb : un précipité jaune.

De même, après élimination du plomb par SO_4H_2 , la liqueur fournit par :

— Le réactif de Bouchardat : un louche ;

— L'acide silicotungstique : un précipité.

Ces dernières réactions peuvent laisser croire à la présence d'un alcaloïde ; nous avons, tout comme l'avait fait CROUY, recherché si un tel corps ne pouvait exister.

Recherche des Alcaloïdes

Cent grammes d'extrait sont épuisés par l'eau chlorhydrique, on filtre ; après alcalinisation par la soude, la liqueur est agitée à plusieurs reprises avec de l'ester acétique. On lave à l'eau, distille à sec, reprend par 10 cm³ d'eau chlorhydrique, porte à l'ébullition ; après refroidissement on filtre et recommence un nouveau traitement dans des conditions identiques.

Sur la solution chlorhydrique enfin obtenue, on essaie le réactif de Bouchardat et le réactif silicotungstique qui, en milieu dilué, ne donnent aucune précipitation.

Ceci nous permet d'infirmer la présence d'alcaloïde, fait du reste qui avait été mentionné par CROUY (3).

Ces essais préliminaires soulignent l'importance d'un ballast tannique et glucidique à éliminer avant d'obtenir une fraction active.

2./ ESSAIS DE FRACTIONNEMENT

Comme le but que nous nous sommes fixés est essentiellement de rechercher dans l'extrait la fraction anthelmintique, nous nous sommes aidés du test pharmacodynamique sur le ver de terre en mettant à l'épreuve les fractions préparées au fur et à mesure.

TEST SUR LE VER DE TERRE

L'espèce utilisée est *Lumbricus terrestris* (L.). Nous nous sommes efforcés d'opérer sur des vers dont le poids varie entre 2,50 gr. et 3,50 gr.

Les vers sont immergés dans les solutions d'extrait à étudier pendant des temps variables, à la température du laboratoire.

Au bout d'un temps déterminé, les vers sont retirés et plongés dans de l'eau.

Le résultat est lu 24 heures après le début de l'expérience.

Un ver témoin placé dans l'eau, dans les mêmes conditions expérimentales, vit après 24 h. d'immersion.

Le temps d'immersion et la concentration de la solution dans laquelle les vers sont plongés sont liés à l'activité du produit étudié.

Nous nous sommes efforcés de trouver la dose limite qui tuait les vers de terre dans un temps déterminé.

TRAITEMENT DE L'EXTRAIT

1°/ SOLUTION AQUEUSE DE L'EXTRAIT.

Une solution aqueuse a été préparée de telle sorte que 1 cm³ corresponde à 20 centigrammes d'extrait primitif.

Elle a été diluée par la suite au 1/2 et au 1/4.

	Ver plongé pendant —	Au bout de —	Résultat —
1 cm ³ correspond à 0,20 gr. d'extr.	30'	24 h.	mort
1 cm ³ » à 0,10 gr. d'extr.	30'	»	variable
1 cm ³ » à 0,05 gr. d'extr.	30'	»	vivant

Ces résultats prouvent que l'extrait est actif à la concentration de 10 pour 100.

Dans un 2^e temps, guidé en cela par les travaux de CROUY (3) qui avait trouvé l'extrait éthéré actif sur le ver de terre, nous avons voulu examiner si la fraction active passait entièrement dans l'éther.

Pour cela, la liqueur aqueuse à 20 pour 100 d'extrait est épuisée à fond par l'éther (5 traitements sont indispensables). L'éther une fois chassé, nous avons essayé d'une part cette liqueur et, d'autre part, la fraction soluble dans l'éther après évaporation de ce dernier et reprise par l'eau bouillante.

2°/ EXTRAIT EPUISÉ PAR L'ETHER.

	Ver plongé pendant —	Au bout de —	Résultat —
1 cm ³ correspond à 0,10 g. d'extr.	30'	24 h.	vivant
1 cm ³ » à 0,10 g. d'extr.	1 h. 30'	»	vivant
1 cm ³ » à 0,20 g. d'extr.	30'	»	mort

d'où l'on déduit qu'après passage à l'éther, l'activité est diminuée mais reste cependant appréciable.

3°/ FRACTION SOLUBLE DANS L'ETHER, REPRISE PAR L'EAU BOUILLANTE.

	<i>Ver plongé pendant</i> —	<i>Au bout de</i> —	<i>Résultat</i> —
1 cm ³ correspond à 0,10 g. d'extr.	30'	24 h.	vivant
1 cm ³ » à 0,20 g. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 0,30 g. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 0,40 g. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 1 g. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 2 g. d'extr.	30'	»	mort

Il passe par conséquent dans l'éther une fraction active. Ces essais montrent que si, dans l'extrait éthéré, une partie du principe anthelminitique passe, cette partie ne peut être que très faible.

En effet, après épuisement par l'éther, l'activité de l'extrait n'est pas sensiblement diminuée. Comme corollaire, la fraction soluble dans l'éther est relativement peu active, puisque c'est seulement pour une dose correspondant à 2 gr. d'extrait primitif que l'on obtient la mort de l'animal, alors que cet extrait et l'extrait épuisé par l'éther sont actifs à la dose de 0,20 gr.

4°/ TRAITEMENT AU PLOMB.

A) Défecation par l'acétate neutre de plomb

Le précipité plombique obtenu après lavage a été décomposé, à chaud, en solution aqueuse par SH₂. Après filtration et élimination de SH₂, on a concentré de manière à obtenir une solution telle qu'un cm³ corresponde à 2 gr. d'extrait primitif. Le filtrat, après élimination du plomb par SH₂ et neutralisation par CO₃Ca, a été également concentré de manière à ce qu'un cm³ corresponde à 1 gr. d'extrait primitif.

a) SOLUTION CORRESPONDANT AU PRECIPITE PLOMBIQUE.

	<i>Ver plongé pendant</i> —	<i>Au bout de</i> —	<i>Résultat</i> —
1 cm ³ correspond à 0,30 gr. d'extr.	30'	24 h.	vivant
1 cm ³ » à 0,50 gr. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 1 gr. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 2 gr. d'extr.	30'	»	mort

b) SOLUTION CORRESPONDANT AU FILTRAT APRES PRECIPITATION

	<i>Ver plongé pendant</i> —	<i>Au bout de</i> —	<i>Résultat</i> —
1 cm ³ correspond à 0,20 gr. d'extr.	30'	24 h.	vivant
1 cm ³ » à 0,30 gr. d'extr.	30'	»	mort

B) Défécation par le sous-acétate de plomb

Nous avons opéré dans des conditions analogues.

a) SOLUTION CORRESPONDANT AU PRECIPITE PLOMBIQUE.

	<i>Ver plongé pendant</i>	<i>Au bout de</i>	<i>Résultat</i>
	—	—	—
1 cm ³ correspond à 0,30 gr. d'extr.	30'	24 h.	vivant
1 cm ³ » à 0,50 gr. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 1 gr. d'extr.	30'	»	vivant
1 cm ³ » à 1 gr. d'extr.	45'	»	mort

b) FILTRAT APRES PRECIPITATION.

	<i>Ver plongé pendant</i>	<i>Au bout de</i>	<i>Résultat</i>
	—	—	—
1 cm ³ correspond à 0,30 gr. d'extr.	30'	24 h.	mort

Ces essais de fractionnement plombique montrent que les acétates de plomb ne précipitent que très imparfaitement le principe actif ou bien ceci indique qu'il existe plusieurs principes anthelmintiques dont l'un est précipité par le plomb, l'autre non. Ce dernier, d'après les résultats obtenus, serait alors le principe dominant.

5°/ DEFECATION CALCIQUE.

La liqueur aqueuse d'extrait primitif est déféquée par la chaux. Après filtration et lavage, la chaux est éliminée du filtrat par CO₂. Après concentration, la liqueur essayée donne les résultats suivants :

	<i>Ver plongé pendant</i>	<i>Au bout de</i>	<i>Résultat</i>
	—	—	—
1 cm ³ correspond à 0,10 gr. d'extr.	30'	24 h.	variable
1 cm ³ » à 0,20 gr. d'extr.	30'	»	mort

La défécation calcique, à condition d'être rapidement conduite, n'altère donc pas le principe actif.

En conclusion, ces essais montrent que le ou les principes actifs ne sont pas éliminés par la chaux et ne précipitent que très partiellement par l'acétate neutre ou le sous-acétate de plomb.

Nous appuyant sur ces premiers résultats, nous avons préparé un extrait purifié par défécation calcique.

Nous avons essayé de voir si la solution de cet extrait n'était pas rellargable par les sels neutres.

Après saturation par SO_4Am_2 dans des conditions de dilution convenable, on obtient un relargat brun riche en produits de dégradation phénolique d'où l'on élimine SO_4Am_2 par reprise à l'alcool à 95°.

Après filtration, distillation et remise en solution aqueuse à $\text{Ph}=7$, on obtient une liqueur brune qui nous a servi à pratiquer les essais suivants :

— 1 cm^3 correspondant à 0,50 gr. d'extrait primitif, le ver étant plongé pendant 30 minutes, n'amène pas la mort de l'animal, alors qu'un cm^3 correspondant à 1 gr. d'extrait primitif l'amène.

Ces résultats prouvent que le ou les principes actifs relarguent mal par SO_4Am_2 et que les pertes sont considérables.

Ce qui vient à l'appui de cette assertion est le fait que la solution aqueuse de ce totum ne relargue qu'imparfaitement par SO_4Am_2 .

3./ ESSAI D'EXTRACTION DU OU DES PRINCIPES ACTIFS

Malgré l'inconvénient que présente la technique par relargage d'entraîner des pertes notables, comme elle permet d'éliminer le ballast glucidique avec facilité, nous nous sommes adressés à elle.

TECHNIQUE : la liqueur aqueuse de l'extrait est déféquée par la chaux. Après filtration à la trompe et lavage, l'excès de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ est éliminé par CO_2 .

On filtre, concentre et sature par SO_4Am_2 . Le relargat obtenu, mêlé de SO_4Ca , est exprimé, lavé par deux fois avec un minimum de solution saturée de SO_4Am_2 .

On reprend par l'alcool à 90°, filtre et distille. Le totum est alors, après dispersion sur terre d'infusoire épuisé successivement par l'éther, le chloroforme, l'ester acétique, l'acétone et l'alcool.

Ces différentes fractions remises en solution aqueuse sont à nouveau essayées sur les vers.

La fraction la plus active est la fraction acétonique puis viennent dans l'ordre d'activité les fractions estéro-acétique, éthérée et alcoolique.

En conséquence, la plus grosse partie du magma primitif a été épuisée par l'acétone anhydre. La liqueur acétonique a été décolorée par le noir diamant et évaporée à sec.

Après plusieurs reprises par un minimum d'ester acétique à chaud et refroidissement à la glacière, on obtient un corps de couleur beige relativement pur.

La fraction soluble dans l'ester acétique a été également évaporée à sec.

ESSAIS

En solution aqueuse, la fraction soluble dans l'ester acétique réduit directement la liqueur de Fehling.

Par contre, la fraction soluble dans l'acétone et peu soluble dans l'ester acétique ne réduit pas la liqueur de Fehling avant hydrolyse chlorhydrique, mais la réduit après.

Ces faits nous portent à penser, puisque ces deux fractions sont actives physiologiquement, qu'en fait la fraction soluble dans l'ester acétique représente un produit de dégradation de l'hétéroside soluble dans l'acétone.

Cette manière de voir est confirmée par le fait que le produit d'hydrolyse en milieu aqueux de cet hétéroside, repris soit par l'ester acétique, soit par l'éther, se montre physiologiquement actif.

Autre constatation intéressante, la fraction aglyconique soluble dans l'éther n'est que très mal relargable par SO_4Am_2 , l'hétéroside lui-même n'étant qu'imparfaitement relargable par ce sel.

Ceci explique les différences d'activité observées entre l'extrait et le relargat obtenu puisqu'au cours de cette opération, la quasi-totalité de l'aglycone est perdue, une partie importante de l'hétéroside l'étant également.

CARACTERES DE L'HETEROSIDE

Cet hétéroside se présente sous la forme d'une poudre inodore, amère, de couleur mastic. Il est soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'ester acétique, insoluble dans l'éther. En solution aqueuse, il fournit les réactions suivantes :

- Acétate de Cu : pas de précipité
- Acétate neutre de Pb : précipité très faible
- Sous-acétate de Pb : précipité moyen
- Fe_2Cl_6 : pas de coloration sensible
- Eau de baryte : pas de précipité, légère augmentation de la coloration
- SO_4Am_2 à saturation : relargage incomplet.

La liqueur chlorhydrique donne les réactions suivantes :

- Liqueur de Bouchardat :
 - en milieu très dilué : aucune précipitation
 - en milieu très concentré : précipitation
- acide silicotungstique : précipité d'autant plus marqué qu'on opère en milieu plus concentré
- Fehling avant hydrolyse : pas de réduction
- Fehling après hydrolyse chlorhydrique : forte réduction.

RECHERCHE DE L'AZOTE

Elle a été pratiquée par la méthode de CASTELLANA. On mélange 0,10 gr. du corps à 0,30 gr. de poudre suivante :

CO_3Na_2 : 1,38 gr.

Mg : 0,72 gr.

On répartit le mélange le long d'un tube à hémolyse et on allume l'orifice du tube. Sa combustion se propage de l'ouverture vers le fond. Lorsqu'elle est terminée, on casse le tube dans 10 cm³ d'eau, on malaxe, on filtre et on ajoute VI gouttes de réactif ferrososulfurique et II gouttes de ClH concentré.

Il se développe une coloration, puis au bout d'un certain temps un précipité bleu dans le cas d'un corps azoté.

Dans le cas présent, la négativité de la réaction nous conduit à admettre que le corps n'est pas azoté.

HYDROLYSE

Cinq grammes de corps sont dissous dans 100 cm³ d' H_2O renfermant 1 pour 100 de SO_4H_2 . L'hydrolyse s'effectue sous réfrigérant à reflux durant une demi-heure.

Au cours de l'hydrolyse se forme un précipité noir polyphénolique, tandis qu'une odeur phénolique très perceptible se dégage.

La liqueur d'hydrolyse est extraite à fond par l'éther. Celui-ci est lavé à deux reprises au moyen d'une solution saturée de chlorure de sodium, puis est desséché sur le sulfate de soude anhydre et distillé à sec. On obtient ainsi un corps jaune-clair ayant une consistance de miel. En solution aqueuse, ce corps présente une réaction acide, réduit MnO_4K à froid et la liqueur de Fehling à chaud.

Ceci nous laisse entendre qu'il s'agit d'un acide désaturé. La liqueur aqueuse après extraction par l'éther est neutralisée par CO_3Ba . On filtre, décolore par le noir, filtre et concentre.

Sur cette liqueur concentrée, on effectue les réactions suivantes :

- Fehling à chaud : forte réduction.

- Réactif de Bertrand : coloration rose.
- Réactif de Bial : coloration vert olive.
- Réactif à la phloroglucine : coloration jaune très faible (absence de pentose).
- Réaction de SELIVANOFF : coloration rose à peine marquée (absence de cétose).
- Osazone en gerbes — point de fusion : 210°.

Ces réactions nous permettent d'avancer que le sucre d'hydrolyse est du glucose.

4./ RECHERCHE DES ACIDES FIXES

Elle se pratique ainsi :

La liqueur est précipitée par une solution d'acétate neutre de plomb en quantité juste suffisante. On filtre et dans le filtrat on ajoute un excès de sous-acétate de plomb et 6 volumes d'alcool à 95°. On obtient un nouveau précipité. On filtre et dans ce dernier filtrat on recherche, après élimination du plomb ou directement, l'acide lactique.

Les précipités plombiques plus haut obtenus, mis en suspension dans l'eau, sont décomposés par SH_2 .

On filtre, décolore par l'acticarbonne, filtre à nouveau et concentre, si nécessaire, les solutions obtenues.

1°/ le premier précipité plombique renferme les acides oxalique, mesoxalique, tartrique, citrique, malique, fumarique, succinique ;

2°/le deuxième précipité plombique contient les acides glycérique et glycolique.

On peut déjà caractériser directement les acides contenus dans la Tanaisie.

a) L'ACIDE TARTRIQUE, par la réaction de Moehler.

A deux gouttes de solution acide, on ajoute 2 à 3 gouttes de réactif et 2 à 3 cm^3 d' SO_4H_2 concentré. Par chauffage à 130-140°, il se développe une coloration violette en présence de cet acide.

b/L'ACIDE CITRIQUE, par le réactif de Dénigès.

A 2 cm^3 de solution, on ajoute 1 cm^3 de réactif, on filtre s'il y a lieu, puis à l'ébullition quelques gouttes de MnO_4K à 2 pour 100. Un précipité blanc prend naissance.

c/ L'ACIDE MALIQUE, par le réactif de Dénigès.

A 2 cm^3 de solution, on ajoute 1 cm^3 de réactif, on porte le filtrat à l'ébullition en ajoutant goutte à goutte une solution à 2 pour 100 de MnO_4K . Il se forme un précipité blanc d'oxalacetate de mercure.

d/ L'ACIDE OXALIQUE.

On le précipite par l'eau de chaux. Ce précipité est soluble dans HCl et insoluble dans CH_3COOH .

Les acides glycérique et glycolique provenant du 2° précipité plombique et mis en évidence dans la Tanaisie sont caractérisés comme suit :

ACIDE GLYCERIQUE :

- a/ par le réactif de Moehler, l'acide glycérique donne une coloration analogue à celle de l'acide tartrique. On évapore à sec ;
- b/ sur le résidu, on pratique la réaction suivante : une parcelle de produit est placée dans un tube à essai. On ajoute 1 cm^3 de réactif à la naphtho-résorcine. On agite et chauffe légèrement. Il se développe une coloration verte caractéristique.

ACIDE GLYCOLIQUE :

Le précédent résidu est épuisé par le mélange suivant :

éther sulfurique : 1 volume

huile de pétrole : 1 volume

L'acide glycolique y est beaucoup plus soluble que l'acide glycérique.

On évapore, reprend par l'eau, vérifie l'absence d'acide glycérique par le réactif de Mochler (s'il existe encore de l'acide glycérique, on reprend à nouveau le résidu par le mélange éther-éther de pétrole).

On pratique alors les réactions suivantes:

a/ A 0,2 cm³ de solution, on ajoute 2 cm³ de SO₄H₂, concentré et l'on chauffe à feu nu jusqu'à dégagement (assez rapide) de fines bulles gazeuses. On laisse refroidir et ajoute une goutte de solution alcoolique de codéine à 1/20 en agitant.

Il se développe une coloration jaune qui passe au violet intense.

b/ A 0,2 cm³ de solution, on ajoute 2 cm³ de SO₄H₂, 1 cm³ de CH₃COOH et deux gouttes d'une solution alcoolique à 1/20 de gaïacol. On chauffe. Une teinte violette se développe.

CONCLUSION A L'ÉTUDE CHIMIQUE

Des résultats antérieurement obtenus et des recherches auxquelles nous nous sommes adonnés, on peut tirer les conclusions suivantes.

Il existe dans les sommités et les feuilles de Tanaisie des principes communs : résines, corps gras comprenant un phytostérol et des acides oléique, linoléique, linolique, stéarique ; mucilages ; tanin ; glucides ; acides fixes : tartrique, citrique, malique, oxalique, glycérique et glycolique.

On y trouve également :

Une essence à β Tuyone, Camphre gauche et Bornéol ;

Un hétéroside non azoté, amer, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, mal précipitable par les acétates de plomb, imparfaitement relargué par SO₄Am₂, fournissant par hydrolyse du glucose et une fraction aglyconique de nature acide soluble dans l'eau et l'éther.

La matière amère décrite sous le nom de Tanacétine par les vieux auteurs devait en renfermer une certaine quantité à côté de produits de dégradation divers.

Pour tenir compte de la terminologie nouvelle et nous inspirant des premières recherches effectuées, nous proposerons de le nommer « Tanacétoside » puisqu'il s'agit d'un hétéroside.

Il est normal que CROUY (3) n'ait pu l'obtenir puisque cet auteur, qui avait pressenti l'existence d'un tel corps, recherchait un principe cristallisé, alors que cet hétéroside est incristallisable. Quant à la Tanacétine II mentionnée par

JARETSKY et KUHNE (4), elle représente à notre avis un tanin mixte impur. La simple lecture du procédé de préparation employé par ces auteurs ne permet pas de conclure autrement. Ce terme est donc à abandonner.

Enfin, en ce qui concerne la présence d'alcaloïdes que ni CROUY (3), ni nous-même n'avons trouvés, nous pouvons indiquer que l'hétéroside a pu, de par les réactions qu'il fournit avec certains réactifs alcaloïdiques, prêter à confusion.

ESSAIS PHARMACODYNAMIQUES

1./ ÉTUDE DU POUVOIR ANTHELMINTIQUE

ESSAIS SUR LE VER DE TERRE

Ces essais ont été effectués sur le ver de terre *Lumbricus terrestris* (L.) avec l'hétéroside, son aglycone et une eau distillée titrant 0,55 gr. d'essence par litre.

Nous avons opéré suivant la technique indiquée plus haut.

ESSAIS AVEC L'HETEROSIDE :

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
2 p. 100	30'	24 heures	mort
	1 h.	»	»
1 p. 100	30'	24 heures	mort
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
0,5 p. 100	30'	24 heures	vivant
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	mort

ESSAIS SUR L'AGLYCONE :

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
2 p. 100	15'	24 heures	vivant
	30'	»	mort
1 p. 100	1 h.	24 heures	mort
	1 h. 30'	»	»

ESSAIS AVEC L'EAU DISTILLÉE :

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
0,05 p. 100	15'	24 heures	mort
0,025 p. 100	15'	24 heures	vivant
	1 h.	»	mort

ESSAIS SUR LE STRONGLE DU CHEVAL

Pour nos essais sur les Nématodes, nous nous sommes adressés à *Strongyloides stercoralis* (Bavay) sous sa forme libre, ce ver existant dans les substances en décomposition, les matières fécales et singulièrement le crottin de ce cheval. Après avoir examiné les crottins de nombreux chevaux, nous avons remarqué que les strongles n'existaient pas dans ces matières quand elles étaient fraîches. C'est dans le crottin examiné 8 à 10 jours après le prélèvement à l'abattoir qu'on les y rencontre. Il ne faut pas laisser ce crottin se dessécher car les strongles disparaissent alors. Il faut, d'autre part, que ce crottin déposé dans des boîtes de Petri soit assez aéré afin d'éviter toute colonisation par des champignons.

Technique opératoire

Une prise de crottin est diluée dans de l'eau distillée. On examine cette préparation à la loupe (grossissement 15). on voit de petits vers qu'on isole en les aspirant à l'aide d'une pipette Pasteur. On les place ensuite dans un verre de montre. On ajoute à un nombre déterminé de vers le produit à étudier. Après un temps de contact donné, on examine la préparation à la loupe. Suivant l'activité du produit, ces vers présentent des mouvements très rapides ou demeurent immobiles. Un témoin placé dans l'eau distillée ne manifeste aucun signe d'intoxication.

ESSAI AVEC L'HETEROSIDE EN SOLUTION A 2 POUR 100 :

Nombre de gouttes de la solution	Temps d'immersion	Etat
10	3 heures	6 vers sont morts 2 vers sont vivants
15	3 heures	1 ver est vivant 5 vers sont morts
20	3 heures	tous les vers sont morts

ESSAI AVEC L'EAU DISTILLÉE :

<i>Nombre de gouttes de la solution</i>	<i>Temps d'immersion</i>	<i>Etat</i>
20	3 heures	5 vers sont vivants 1 ver est mort
40	3 heures	5 vers sont vivants 1 ver est mort

Considérations. — Les essais effectués avec l'eau distillée, l'hétéroside et son aglycone montrent que ces divers corps présentent une activité anthelminthique nette.

Mais, fait intéressant, alors que l'hétéroside se montre actif vis-à-vis du ver de terre et du strongle de cheval, l'eau distillée et partant l'essence ne sont actives que sur le ver de terre.

Ceci explique les discordances existant entre les auteurs lorsqu'ils parlent des propriétés anthelminthiques de la Tanaisie.

En effet, le plus souvent, in vitro, les essais ont été pratiqués sur le ver de terre, et là l'élément le plus actif paraît être l'essence ; par contre, in vivo, on s'est adressé comme l'ont fait CAIUS et MASHKAR ou encore CROUY (3) à des Nématodes. L'essence étant inactive vis-à-vis de ces vers, il n'est pas étonnant que d'après les résultats obtenus, ces auteurs aient nié toute action anthelminthique à ce principe.

Si les essais in vitro permettent de fixer l'activité anthelminthique d'un corps déterminé, ils ne suffisent pas.

En effet, in vivo, l'action d'un anthelminthique est fonction non seulement de son activité propre, mais encore de la sécrétion biliaire de l'individu.

Au cours d'une étude effectuée sur certaines drogues anthelminthiques, SEELKOPT et AUTERHOFF (10) indiquent que l'inefficacité de la Santonine, principe d'ordinaire très actif, chez certains individus, paraît due à une insuffisance de la sécrétion biliaire.

On peut se demander si le rôle joué par la bile dans ce cas est celui d'un décapant ou d'un corps tensio-actif.

Afin de vérifier cette dernière proposition, nous nous sommes adressés à des saponosides dont le pouvoir tensio-actif est très élevé, et nous avons recherché quel était leur pouvoir anthelminthique.

Puis, dans une deuxième série d'expériences, nous avons essayé de voir si l'un de ces corps tensio-actifs mordantait ou non l'action de l'hétéroside de la Tanaisie.

ESSAIS SUR LE VER DE TERRE DE DIVERS SAPONOSIDES

Essais avec : 1° le SAPONOSIDE de *Sapindus Mukorosi* (Gaertn.)
Sapindus Saponaria (Trabut)

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
4 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
2 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
0,50 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

2°) Le SAPONOSIDE DE SAPONAIRE
Saponaria officinalis (L.).

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
2 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

3°) Le SAPONOSIDE DE L'ECORCE DE PANAMA

Quillaja Saponaria (MOLL).

<i>Titre de la solution</i>	<i>Temps d'immersion</i>	<i>Lecture au bout de</i>	<i>Etat</i>
4 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
2 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

4°) Le SAPONOSIDE DE L'ANEMONE

Anemone pulsatilla (L.).

<i>Titre de la solution</i>	<i>Temps d'immersion</i>	<i>Lecture au bout de</i>	<i>Etat</i>
4 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
2 p. 100	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

Ces quatre saponosides présentent des pouvoirs toxiques nets à des concentrations supérieures ou égales à 5 pour 100 vis-à-vis des vers.

Essais de toxicité limite de certains saponosides

1°) SAPONOSIDE DU LIERRE

Hedera helix (L.).

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
1 p. 1.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 10.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

2°) SAPONOSIDE DU MARRON D'INDE

Aesculus hippocastanum (L.).

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
1 p. 1.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 5.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 10.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»

3°) SAPONOSIDE DE LA SAPONAIRE

Saponaria officinalis (L.).

Titre de la solution	Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
1 p. 200	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 400	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 5.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 10.000	30'	24 heures	morts
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	»
	2 h.	»	»
1 p. 20.000	30'	24 heures	vivants
	1 h.	»	»
	1 h. 30'	»	morts
	2 h.	»	»

ESSAIS SUR LE STRONGLE DE CHEVAL DE DIVERS SAPONOSIDES

1°) SAPONOSIDE DU QUILLAJA

Quillaja saponaria (MOLL.).

Nombre de vers	Titre de la solution	Nombre de gouttes	Temps d'immersion	Etat
6	1 p. 3.000	20	3 heures	vivants
6	1 p. 300	20	1 heure	»
6	1 p. 300	30	3 heures	»
6	1 p. 300	30	24 heures	2 vers vivants

2°) SAPONOSIDE DU LIERRE

Hedera helix (L.).

Nombre de vers	Titre de la solution	Nombre de gouttes	Temps d'immersion	Etat
6	1 p. 3.000	20	3 heures	vivants
6	1 p. 300	20	1 heure	»
6	1 p. 300	30	3 heures	6 vers vivants
6	1 p. 300	30	24 heures	3 vers vivants

3°) SAPONOSIDE DU MARRON D'INDE

Aesculus hippocastanum (L.).

Nombre de vers	Titre de la solution	Nombre de gouttes	Temps d'immersion	Etat
6	1 p. 3.000	20	3 heures	vivants
6	1 p. 300	20	1 heure	»
6	1 p. 300	30	3 heures	»
6	1 p. 300	30	24 heures	1 ver vivant

4°) SAPONOSIDE DE

Sapindus Saponaria (Trabut).

Nombre de vers	Titre de la solution	Nombre de gouttes	Temps d'immersion	Etat
6	1 p. 3.000	20	3 heures	vivants
6	1 p. 300	20	1 heure	»
6	1 p. 300	30	3 heures	»
6	1 p. 300	30	24 heures	2 vers vivants

5°) SAPONOSIDE DU PHYTOLACCA

Phytolacca decandra (L.).

Nombre de vers	Titre de la solution	Nombre de gouttes	Temps d'immersion	Etat
6	1 p. 200	20	3 heures	vivants
6	1 p. 300	20	24 heures	3 vers vivants

Les essais effectués montrent que le strongle du cheval est pratiquement insensible à l'action des saponosides. En de très rares cas, en effet, et seulement pour des concentrations élevées et une immersion prolongée (24 h.), les saponosides ont paru manifester un minimum d'activité.

Essais sur le ver de terre du mélange constitué par le Saponoside du Lierre et le Tanacetoside

Emploi de : 25 cm³ de solution de Tanaisie 1 p. 100

0,25 cm³ de solution de Lierre 1 p. 100

H₂O q.s.p. 50 cm³

soit une concentration de 1 p. 200 en hétéroside et 1 p. 20.000 en saponoside.

Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
30'	24 heures	vivants
1 h.	»	»
1 h. 30'	»	»
2 h.	»	»

Essais sur le strongle

On a utilisé un mélange tel que la concentration en saponoside était de 1/300 et en hétéroside de 1/200.

Temps d'immersion	Lecture au bout de	Etat
30'	24 heures	vivants
1 h.	»	»
1 h. 30'	»	»
2 h.	»	»

CONCLUSION

Les saponosides, très actifs sur le ver de terre, ne le sont pas sur le strongle du cheval. De plus, ils ne paraissent pas morder l'action d'un corps actif comme l'est le Tanacétoside.

Nous sommes donc en mesure de croire que ce n'est pas par son action sur la tension superficielle que la bile agit, tout au moins in vitro.

5°/ ESSAIS SUR LES POISSONS

TECHNIQUE DE M^{lle} LEVY (7)

Les essais sont effectués sur de petits poissons : les Gambusia (G. Holbroocki) d'un poids de 10 à 20 centigrammes, et de préférence sur les mâles. Ces derniers sont placés dans de petits ballons contenant une solution dans l'eau distillée du produit à étudier. Ces ballons sont placés dans un récipient contenant de l'eau afin d'éviter de grands écarts de température. Un témoin placé dans le même volume d'eau distillée est ajouté à chaque groupe d'expériences. On constate le nombre de poissons morts après 24 h. On peut admettre que l'activité du produit est parallèle à sa toxicité.

Essais

1°) COMPARAISON AVEC UNE FILICINE BRUTE RETIREE DE LA FOUGERE.

Titre de la solution	Nombre de poissons	Contenu du ballon	Nbre de morts après 24 h.	% de morts
1 p. 100	4	49 cm ³ H ₂ O 1 cm ³ fougère mâle	4	100
1 p. 1000	8	49 cm ³ H ₂ O 1 cm ³ fougère mâle	8	100
1 p. 10000	4	49,75 cm ³ H ₂ O 0,25 cm ³ fougère mâle	0	0

2°) ESSAIS AVEC L'HETEROSIDE DE LA TANAISIE.

Titre de la solution	Nombre de poissons	Contenu du ballon	Lecture au bout de	Etat
1 p. 100	4	1 cm ³ Tanaisie 49 cm ³ H ₂ O	24 heures	vivants
1 p. 100	8	2 cm ³ Tanaisie 48 cm ³ H ₂ O	»	»
1 p. 100	4	4 cm ³ Tanaisie 46 cm ³ H ₂ O	»	»
1 p. 100	4	2 cm ³ Tanaisie 18 cm ³ H ₂ O	»	»
1 p. 100	1	20 cm ³ Tanaisie	»	mort

3°) ESSAIS AVEC L'EAU DISTILLÉE.

Quatre poissons sont plongés dans 20 cm³ d'eau distillée ; ils sont morts le lendemain.

Ces expériences montrent que la toxicité de l'hétéroside est faible.

Elle est comparable pour le poisson et le ver de terre.

2./ TOXICITE et ACTION sur les DIVERS APPAREILS du CHIEN CHLORALOSE de l'HETEROSIDE

A/ TOXICITE

Le principe intéressant étant l'hétéroside, nous avons essayé de déterminer la limite de toxicité et sur le rat blanc, et sur le cobaye.

Le corps a été utilisé en solution aqueuse et administré par voie parentérale. A la dose de 0,50 gr. par kilog, ni le rat blanc, ni le cobaye n'ont manifesté de troubles de quelque nature que ce soit.

Cette dose étant énorme, nous n'avons pas poursuivi au delà nos expériences. Et nous pouvons admettre que le Tanacetoside est pratiquement atoxique.

B/ ACTION SUR LES DIFFERENTS APPAREILS DU CHIEN CHLORALOSE.

Nous avons réalisé une seule expérience pour essayer l'hétéroside de la Tanaisie en solution à 2 p. 100 par voie intrasaphène sur la pression artérielle, les mouvements respiratoires et intestinaux du chien chloralosé (0,11 gr. par k.).

Pour une première injection de 1 cg p. k. de produit, nous avons constaté une chute brève de la pression artérielle, l'apparition d'un petit spasme intestinal suivi d'une chute du mouvement et une très brève phase d'accélération respiratoire.

Ces phénomènes se sont répétés à la suite de la 2^e injection du même produit à dose double (2 cg. p. k.).

Enfin une dernière injection (3 cg. p. k.) nous a donné une forte chute de la pression artérielle, laquelle se rétablit lentement, un spasme intestinal considérable suivi de l'arrêt total des mouvements de cet organe et une forte accélération respiratoire.

Il nous est difficile de conclure d'une seule expérience. Les phénomènes que nous venons d'observer nous paraissent peu spécifiques d'une activité pharmacodynamique très nette. Nous pouvons seulement constater que ce produit n'est pas toxique.

3./ ÉTUDE DU POUVOIR BACTÉRICIDE

Nous avons expérimenté in vitro l'hétéroside et l'aglycone de la Tanaisie sur la croissance de certains germes.

TECHNIQUE EXPERIMENTALE

Germes utilisés : staphylococcus souche Fleming
enterocoque (Streptococcus Fæcalis)
typhique (Salmonella typhi)
colibacille (Escherichia coli).

Méthode des dilutions en milieu liquide

1°) MILIEU :

Bouillon préparé avec de l'extrait de viande Difco dont la composition est pratiquement constante. Le milieu liquide, après ajustement du pH lorsque cela est nécessaire, est réparti en tube de 18.18 à raison de 9 cm³ par tube et stérilisé.

2°) LA SUBSTANCE A ETUDIER :

Elle est dissoute à chaud dans de l'eau distillée de manière à obtenir une solution-mère diluée au moment de l'emploi de façon que 1 cm³ de dilution ajouté à 9 cm³ de milieu donnent une concentration finale de 1/500.

3°) INOCULAT :

Il est représenté par 0,1 cm³ d'une dilution au 1/100 de culture du germe en milieu liquide, âgé de 24 heures.

4°) TEMOINS DE CROISSANCE :

Le même inoculat étant ensemencé dans 10 cm³ de milieu.

5°) DETERMINATION DE LA CROISSANCE MICROBIENNE :

Elle est appréciée par la mesure de la densité optique à l'aide de l'électrophotomètre « Electrosynthèse écran n° 0 » au temps 0, c'est-à-dire immédiatement après inoculation et au bout de 24 h. et 48 h. de séjour à l'étuve à 37°.

Nous exprimons les résultats en déterminant la différence d'intensité des transmissions lumineuses au temps donné par rapport au temps 0, par lecture des graduations du galvanomètre de l'appareil.

Nous obtenons comparativement la croissance de la bactérie dans le milieu témoin et dans le milieu additionné de la substance à étudier.

De l'examen des courbes de croissance par rapport au témoin, il ressort que l'aglycone de la Tanaïsie dans les conditions expérimentales présente une activité appréciable sur le développement de l'entérocoque, du staphylocoque et du bacille typhique et une activité moindre sur le colibacille.

L'hétéroside testé dans les mêmes conditions n'a manifesté aucune activité.

Ces faits sont extrêmement intéressants à signaler.

En effet, alors que l'hétéroside s'avère inactif, son aglycone présente une nette activité. On conçoit donc que selon la qualité des extraits employés ceux-ci peuvent se montrer in vitro d'une activité très différente et que des expériences avec ces préparations seulement ne peuvent être d'un grand intérêt.

D'autre part, on peut penser que l'hétéroside, sous l'action des diastases du tube digestif, se scinde en libérant son aglycone.

Ceci souligne l'intérêt d'une expérimentation un peu approfondie qui permette d'expliquer comment un principe apparemment inactif puisse se montrer doué de propriétés appréciables.

CONCLUSIONS

L'étude que nous avons entreprise sur la Tanaisie nous a été suggérée par la discordance des résultats observés jusqu'à ce jour quant à son action anthelminthique.

Jusqu'en 1927, il était admis que l'essence était le principe actif de la drogue et agissait singulièrement comme ascaricide.

Puis des essais entrepris à Madras par CAIUS et MASHKAR, en 1923, sur des porteurs d'*Ascaris*, *Ankylostomes*, *Nécators*, ont conduit ces auteurs à nier toute activité à l'essence.

L. CROUY (3), en 1927, partant de ces données, s'est alors efforcé de mettre en évidence dans la drogue un principe anthelminthique qui ne fût pas ce corps.

Partant d'un extrait éthéré préparé avec les sommités fleuries de Tanaisie, il ne put obtenir que des résultats négatifs sur le ver de terre et sur les poissons *in vitro*. *In vivo*, il obtint avec ce même extrait des résultats sur les porteurs d'*Ascaris*.

JARETSKY et KUHNE, ignorant les travaux de CROUY, reprennent la question en 1933.

A la suite d'essais négatifs *in vitro* sur vers de terre, poissons et grenouilles, ils admettent sans trop de preuves que l'essence doit être la fraction active.

A notre tour, nous avons essayé, *in vitro*, et sur le ver de terre *Lumbricus terrestris* L. et sur un strongle du cheval, *Strongyloïdes stercoralis*, l'eau distillée de Tanaisie renfermant l'essence et un extrait hydro-alcoolique pratiquement dépourvu de ce corps.

De plus, nous servant du test ver de terre, nous avons essayé de rechercher par tâtonnements, en fractionnant progressivement cet extrait, s'il n'existait pas en dehors de l'essence un principe anthelminthique.

Il résulte de nos recherches que :

- 1° L'eau distillée et partant l'essence sont actives sur le ver de terre, mais non sur le Strongle du cheval ;
- 2° Il existe un hétéroside, le « Tanacétoside », actif et sur le ver de terre et sur le Strongle du cheval.

Par hydrolyse cet hétéroside donne du glycoside et une fraction aglyconique de nature acide soluble dans l'eau et dans l'éther, également active sur ces deux helminthes.

C'est à ce dernier principe qu'est due vraisemblablement l'activité de l'extrait étheré. Mais comme il n'existe qu'en petite quantité, il n'est pas étonnant que CROUY (3) n'ait pu « in vitro » obtenir que des résultats négatifs.

L'hétéroside et ses produits de dégradation étant les corps intéressants contre les Nématodes, il était indispensable d'examiner quelle était sa toxicité et également s'il ne possédait pas d'action pharmacodynamique qui aurait pu en faire proscrire l'emploi.

La toxicité de ce corps est pratiquement nulle, et sur les différents appareils du chien chloralosé il ne présente pas d'activité appréciable. Ces faits permettent donc de penser que son emploi est sans danger et que les préparations galéniques qui le renferment, une fois éliminée l'essence toxique, peuvent être utilisées.

Afin de nous plier aux règles classiques d'essais des substances anthelminthiques, nous avons procédé à des expériences sur les poissons. L'essence s'est révélée très toxique. Par contre, le Tanacétoside s'est montré d'une activité comparable et sur le poisson et sur les vers de terre.

Les travaux de SEELKOPF et AUTERHOFF (10) ayant mis en évidence le fait que la présence de bile était indispensable pour que soit révélée l'activité d'une substance anthelminthique, et la bile par ses sels biliaires étant douée de la propriété d'abaisser la tension superficielle, nous avons voulu nous rendre compte si cette propriété était celle qu'il fallait incriminer dans l'action de la bile.

Pour cela nous avons procédé à des essais en utilisant des corps fortement tensio-actifs : des Saponosides.

L'expérience a montré que ceux-ci étaient extrêmement actifs vis-à-vis du ver de terre, mais étaient par contre inactifs vis-à-vis du strongle du cheval. De plus, ces corps, par leur présence, ne mordant pas l'action de substances vraiment anthelminthiques comme le Tanacétoside. Ce n'est donc pas à ses propriétés tensio-actives que la bile doit son action, tout au moins in vitro.

Les essais portant sur les corps bactériostatiques étant à la mode, nous avons songé à vérifier grossièrement si le Tanacétoside présentait ou non une action « in vitro » sur certains germes.

Cet hétéroside s'est montré sans action sur le staphylocoque, le colibacille et le bacille typhique. Par contre, son aglycone à

la concentration de 1/500 s'est montré actif sur ces mêmes germes.

En ce qui concerne les actions complémentaires de la drogue notées par les vieux auteurs, et particulièrement les actions sur le foie et la diurèse, nous pensons qu'elles peuvent s'expliquer par la présence d'acides organiques et singulièrement par celle des acides glycolique et glycérique.

En résumé, la Tanaisie est bien, comme la tradition populaire depuis longtemps l'avait montré, un anthelmintique.

Dans cette action, il n'est pas impossible que l'essence interviene, mais non en ce qui concerne les Nématodes.

De toute manière, vu les inconvénients dus à sa toxicité, ce corps ne nous paraît pas devoir être retenu.

Par contre, le Tanacétoside et son aglycone, corps pratiquement atoxiques, présentent un net intérêt de par le fait qu'ils paraissent actifs contre les Helminthes et singulièrement les Nématodes.

Vu et approuvé.

Pour le Doyen,

L'assesseur :

RIMATTEI

Lu :

Le Président du Jury :

BALANSARD.

Vu et permis d'imprimer

AIX, le 15 Juillet 1952

Le Recteur :

BLACHE

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BRAUN (H.). — *In Chemical Abstracts : Effect of extracts from Tanacetum Vulgare on gastric secretion*, 1949, vol. 43, t. 3, n° 8537.
 - (2) BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*. Paris, 1936 Masson et C^{ie}, éditeur), t. I, p. 883.
 - (3) CROUY (L.), Doct. Pharm. (Univ.). — *Etude botanique, chimique et pharmacodynamique de la Tanaisie commune*. Paris, 1928.
 - (4) JARETZKY (R.) et KUHNE (F.). — *Zur Pharmakognosie von Tanacetum vulgare L.* — *Archiv. der Pharm.*, 1933, n° 527, p. 353.
 - (5) KRÖEBER (L.). — *In Biological Abstracts*, 1932, t. 3, n° 23.018.
 - (6) LECLERC (H.). — *Revue de Phytothérapie*, Paris 1947, 11^e année, n° 69, p. 99.
 - (7) M^{lle} LEVY (J.). — *Drogues anthelminthiques. Extrait des « Essais et dosages biologiques des substances médicamenteuses »*, 1930 (Masson édit.), p. 103-104.
 - (8) PERROT (Em.). — *Matières premières du règne végétal*. Paris, 1949 (Masson et C^{ie}, édit.), t. II, p. 2.231.
 - (9) PLANCHON (L.), BRETIN (P.) et MANCEAU (P.). — *Précis de Matière Médicale*, Paris 1946 (Maloine édit.), t. II, p. 2138.
 - (10) SEELKOPF (K.) et AUTERHOFF (H.). — *Recherche de nouveaux anthelminthiques ; in Produits Pharmaceutiques*, 1951, vol. 6, n° 11, p. 560.
-

